

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและไอโซไซม์ในเห็ดโคน(*Termitomyces spp.*)

นางชัชฎาพร อินทามา



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาพฤกษศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2539

ISBN 974-634-432-3

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

STUDY OF MORPHOLOGY AND ISOZYME IN *Termitomyces. spp.*

Mrs. Chutchadaporn Intumma

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Botany

Graduate School

Chulalongkorn University

1996

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและไอโซไซม์ของเห็ดโคน
(*Termitomyces spp.*)

โดย นางชัชฎาพร อินทาม่า

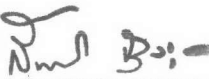
สาขาวิชา พันธุศาสตร์

ภาควิชา พฤกษศาสตร์

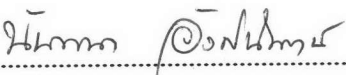
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ มุกดา กุหิรัญ


อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร.สุจิตรา งามตระกูล

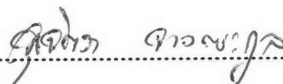
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต


.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.สันติ งามสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นันทนา อังกินันท์)


.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ มุกดา กุหิรัญ)


.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ดร.สุจิตรา งามตระกูล)


.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เตือนใจ โก้สกุล)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

ชัชฎาพร อินทาม่า : การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและไอโซไซม์ของเห็ดโคน
Termitomyces spp. (STUDY OF MORPHOLOGY AND ISOZYME IN Termitomyces)
อ.ที่ปรึกษา : รศ.มุกดา คูศิริญ ดร. สุจิตรา จางตระกูล 67 หน้า
ISBN 974-634-432-3

ได้มีการสำรวจและเก็บรวบรวมเห็ดโคนจาก 3 จังหวัด ได้เห็ดโคนมาทั้งสิ้น 12 ตัวอย่าง คือ จากจังหวัด กาญจนบุรี 1 ตัวอย่าง ราชบุรี 1 ตัวอย่าง และ เพชรบุรี 10 ตัวอย่าง นำเห็ดโคนเหล่านี้มาศึกษาทางสัณฐานวิทยา สามารถจำแนกได้ถึงสปีชีส์ได้ 4 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างที่ 4, 8 และ 11 จัดอยู่ใน Termitomyces tyleranus Oteino ส่วนตัวอย่างที่ 10 จัดอยู่ใน T. microcarpus (Berk. et Br.) Heim ในงานวิจัยนี้ยังได้ใช้เทคนิค horizontal starch gel electrophoresis เพื่อศึกษา isozyme patterns พบว่าเห็ดโคนในตัวอย่างที่ 4 8 และ 11 มี รูปแบบของไอโซไซม์ 4 ชนิด คือ 6-PGDH IDH MDH และ G-6PDH ที่เหมือนกัน ส่วนรูปแบบของไอโซไซม์ที่เหลืออีก 8 ชนิดนั้นไม่สามารถอ่านค่าได้เนื่องจากให้แถบสีที่ไม่ชัดเจนจากไซโมแกรมของไอโซไซม์ 4 ชนิด สามารถแยกความแตกต่างของลักษณะพื้นฐานทางพันธุกรรมของไอโซไซม์ของเห็ดโคน 11 ตัวอย่าง ได้เป็น 6 กลุ่ม คือตัวอย่าง ที่ 1 5 6 7 และ 11 มีความแตกต่างกันส่วนตัวอย่างที่ 2 3 4 8 9 และ 12 มีไซโมแกรมที่เหมือนกัน

ภาควิชา..... พฤษศาสตร์
สาขาวิชา..... พันธุศาสตร์
ปีการศึกษา..... 2538

ลายมือชื่อนิสิต.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... รศ. มุกดา คูศิริญ
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... สุจิตรา จางตระกูล

C425463 : MAJOR GENETICS
KEY WORD: TERMITOMYCES/MORPHOLOGY/ISOZYME PATTERNS

CHUTCHADAPORN INTUMMA: STUDY OF MORPHOLOGY AND ISOZYME IN
TERMITOMYCES

THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. MUKDA KUHIRUN 67 pp.
ISBN 974-634-432-3

Twelve samples of Termitomyces sp. from 3 provinces were collected, one from Kanjanaburi, one from Rajaburi and ten from Petchaburi. Three of four samples, such as sample # 4, # 8 and # 10, were identified as T. tyleranus Oteino, and sample # 10 was also identified as T. microcarpus (Berk. et Br.) Heim.

For this experiment horizontal starch gel electrophoresis was used to study of isozyme patterns. It was found that 4 zymogram of 6-PGDH, IDH, MDH and G-6PDH from sample # 4, # 8 and # 11 were alike. But 8 zymogram left could not be identified because of non-stained band. The 11 samples of Termitomyces could be grouped into 6 groups, based on the genetic information different of isozymes, which sample # 1, # 5, # 6, # 7, and # 11 had different zymogram and sample # 2, # 3, # 4, # 8, # 9 and # 12 had likely zymogram.

ภาควิชา..... BOTANY.....

สาขาวิชา..... GENETICS.....

ปีการศึกษา..... 2538.....

ลายมือชื่อนิสิต..... *H. Intumma*.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... *M. Kukhiron*.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... *M. Kukhiron*.....

กิตติกรรมประกาศ



ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ มุกดา คูหิรัญ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาช่วยเหลือแนะนำ ชี้แนะแนวทางในการศึกษาวิจัย ตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.สุจิตรา จางตระกูล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาเอื้อเพื่อให้ใช้ห้องปฏิบัติการ DNA และ Isozyme สารเคมี เครื่องมือต่าง ๆ และให้คำปรึกษา ในการทำการทดลองและวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ นันทนา อังกินันท์ ประธานกรรมการ และผู้ช่วยศาสตราจารย์เตือนใจ โก้สกุล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ช่วยตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ทรงศักดิ์ สำราญสุข ที่ช่วยบริการถ่ายรูปและให้คำแนะนำเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัยห้องปฏิบัติการ DNA และ Isozyme สำนักวิชาการป่า กรมป่าไม้ ที่กรุณาช่วยเหลือในการดำเนินการวิจัยเป็นอย่างดี ตลอดจนน้อง ๆ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณ คุณจันทนา แซ่เล่า คุณสุรราช อินท่ามา และทุกท่านที่เป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนในการทำวิทยานิพนธ์นี้

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา พี่ๆทุกคนที่ให้ทุกสิ่งทุกอย่างจนถึงทุกวันนี้

สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ซ
สารบัญรูป.....	ฅ

บทที่

1. บทนำ.....	1
2. การตรวจเอกสาร.....	6
3. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	14
4. ผลการทดลอง.....	25
5. วิเคราะห์ผลการทดลอง.....	56
6. สรุปผลการทดลอง.....	60
รายการอ้างอิง.....	61
ภาคผนวก.....	65
ประวัติผู้เขียน.....	67

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ระบบเอ็นไซม์ที่ทำการตรวจสอบ.....	5
2 แสดงลักษณะของไซโมแกรมของ homozygote และ heterozygote ของเอ็นไซม์ ที่เป็น monomer dimer trimer และ tetramer.....	13
3 ส่วนประกอบของ extraction buffer.....	17
4 อิเล็กโทรคัพเฟอร์ เจลบัฟเฟอร์ ค่าทางไฟฟ้า และระยะเวลาที่เหมาะสม กับเอ็นไซม์แต่ละชนิด.....	18
5 ส่วนผสมของเจลแป้งในบัฟเฟอร์ชนิดต่าง ๆ.....	19
6 ส่วนประกอบ ๆ ของสารเคมีที่ใช้ในการศึกษา.....	21
7 ตารางสรุปผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดโคน.....	47
8 ตารางการเปรียบเทียบไซโมแกรมที่ได้จากเส้นใยเห็ดโคน 11 ตัวอย่าง.....	55

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1 วงชีพของเห็ดใน Class Basidiomycetes.....	2
2 เครื่องมือในการทำอิเล็กโตร โฟเรซิส.....	16
3 การเตรียมสารสกัดจากเส้นใยเห็ดโคน.....	17
4 การเตรียมเจลแบ็ง.....	19
5 การใส่ตัวอย่าง.....	20
6 การเตรียมสีย้อม.....	24
7 เห็ดโคนที่เจริญจากรังปลวก และ fungus garden หรือ fungus comb.....	26
8 ลักษณะของหมวกดอก.....	26
9 ครีบดอกเห็ดโคนไม่ติดกับก้าน.....	27
10 สปอร์เห็ดโคน มีรูปร่างแบบ elliptical.....	27
11 รูปร่างของหมวกดอก.....	27
12 ตัวอย่างที่ 1 จากจังหวัดเพชรบุรี.....	28
13 ตัวอย่างที่ 2 จากจังหวัดเพชรบุรี.....	29
14 ลักษณะของ พิมพ์สปอร์ สปอร์ และ cystidia ของเห็ดโคนตัวอย่างที่ 2.....	30
15 ตัวอย่างที่ 3 จากจังหวัดเพชรบุรี.....	31
16 ตัวอย่างที่ 4 จากจังหวัดเพชรบุรี.....	32
17 ลักษณะของ พิมพ์สปอร์ สปอร์ cystidia ของเห็ดโคนตัวอย่างที่ 4.....	33
18 ตัวอย่างที่ 5 จากจังหวัดเพชรบุรี.....	34
19 ลักษณะของ พิมพ์สปอร์ สปอร์ และ cystidia ของเห็ดโคนตัวอย่างที่ 5.....	35
20 ตัวอย่างที่ 6 จากจังหวัดเพชรบุรี.....	36
21 ลักษณะของ พิมพ์สปอร์ สปอร์ และ cystidia ของเห็ดโคนตัวอย่างที่ 6.....	37
22 ตัวอย่างที่ 7 จากจังหวัดเพชรบุรี.....	38
23 ลักษณะของ พิมพ์สปอร์ สปอร์ และ cystidia ของเห็ดโคนตัวอย่างที่ 7.....	39
24 ตัวอย่างที่ 8 จากจังหวัดเพชรบุรี.....	40
25 ลักษณะของ พิมพ์สปอร์ สปอร์ และ cystidia เห็ดโคนตัวอย่างที่ 8.....	41
26 ตัวอย่างที่ 9 จากจังหวัดเพชรบุรี.....	42

รูปที่	หน้า
27 ตัวอย่างที่ 10 จากจังหวัดราชบุรี.....	43
28 ลักษณะของ พิมพ์สปอร์ สปอร์ และ cystidia ของเห็ดโคนตัวอย่างที่ 10.....	44
29 ตัวอย่างที่ 11 จากจังหวัดเพชรบุรี.....	45
30 ตัวอย่างที่ 12 จากจังหวัดกาญจนบุรี.....	46
31 ไซโมแกรมที่ได้จากเอ็นไซม์ 6-PGDH ของเส้นใยอายุ 15 วัน.....	51
32 ไซโมแกรมที่ได้จากเอ็นไซม์ IDH ของเส้นใยอายุ 15 วัน.....	52
33 ไซโมแกรมที่ได้จากเอ็นไซม์ MDH ของเส้นใยอายุ 15 วัน.....	53
34 ไซโมแกรมที่ได้จากเอ็นไซม์ G6PDHของเส้นใยอายุ 15 วัน.....	54